

HÜVELYES BÁZISÚ SZÁRAZTÉSZTA ANTINUTRITIV ANYAGAINAK VIZSGÁLATA

KOVÁCS ERZSÉBET

Élelmiszerkémia és Élelmiszeranalitika Tanszék

ÖSSZEFOGLALÓ

A hüvelyes bázisú, sárga- és zöldborsó lisztből emulgeátorral előállított száraztészták antinutritív anyagtartalmát vizsgálta a szerző modell rendszerekben. Az enzimatiskus módszer alkalmazásával megállapítható, hogy a lisztek hőkezelés nélkül is alkalmasak emberi fogyasztásra 6,62 illetve 4,72 TIU/mg értékekkel. A tészta főzése során a hőkezelés előnyösen és szignifikánsan csökkenti a TIU/mg értékeket. A hüvelyes bázisú száraztészták diétás termékek a lisztérzékeny betegek számára, ugyanakkor az antinutritív anyagtartalmuk sem haladja meg a megengedhető értéket. A kísérletek a KÉE K + F 3 téma keretében a NORLEG csoport LINE NETWORK hátterével és a AFRC (UK), Norwich támogatásával kerültek elvégzésre.

I. BEVEZETÉS

A borsólisztek fehérjei albuminból és globulinból állnak, ezért a borsó bázisú száraztészták igen fontos szerepet játszanak a lisztérzékeny betegek diétájában. A fehérjék egy rugalmas hálózatot képeznek, de ennek minősége nem éri el a sikefehérje hálózatot. A tészta szerkezetének javítására emulgeátorok alkalmazhatók (Kovács 1994 és von Zuilichem 1995). Azonban a hüvelyes alapanyagok alkalmazásánál tekintettel kell lenni azok antinutritív anyagaira. A hüvelyesek hőérzékeny antinutritív anyagai a tripszin- és kimotripszin inhibitorok, a lektinek és az ureáz. A hüvelyesekben előforduló tripszin- és kimotripszin a vékonybélben inaktív komplexet képeznek, amely korlátozza a fehérje hasznosulását valamint a pankreász fokozott működése miatt gyulladást okoz.

A fehérjetermészetű tripszininhibitorok a legjobban tanulmányozott antinutritív faktorok. Aktivitásuk meghatározására 1947-ben Kunitz dolgozott ki eljárást, kazeint használva a tripszin szubsztrátiaként.

Lektor: Dr. Gelencsér Éva a kémiai tud. kandidátusa, KÉKI

A tripszin fehérjebontó hatása szigorúan fajlagos, csak az erősen bázikus aminosavak (arginin, lizin) karboxilcsoportjai által létesített peptidkötéseket bontja (Petres és Kárpáti 1981). Ezért ezen aminosavak származékai szintetikus szubsztrátként jól alkalmazhatók. Ilyen származékok pl. *N*- α -benzoil-DL-arginin-*p*-nitroanilid (BAPA).

Kakade és munkatársai (1974) szójabab aktív tripszininhibitor tartalmának meghatározására irányuló munkájuk során széles határon belül lineáris összefüggést találtak a tripszin hatására a BAPA-ból felszabaduló *p*-nitroanilin mennyisége és az aktív enzim koncentrációja között. Az általuk kidolgozott, reprodukálható módszert 1974-ben közölték.

Petres és Kárpáti (1981) egy tripszin egységet (TU) a következőképpen definiálnak: meghatározott körülmények között, 10 cm³ reakcióelegyben, 10 percig végbemenő reakció 0,01 extinkció növekedése 410 nm-en mérve. Egy tripszininhibitor-aktivitási egység (TIU) egy tripszin egység gátlását jelenti.

An és munkatársai (1994) Kakade módszer elvén a tripszininhibitor-aktivitás mérésére mikro módszert fejlesztett ki. 30 mg borsó lisztet extraháltak 3 cm³ 0,009 M HCl oldattal 25 °C-on, 1 óráig. Ennek 20-60 μ l részletét titráló lemezre vitték, ahol a Kakade módszernek megfelelő reagenseket mérték hasonló μ -es mennyiségekben. A meghatározáshoz 60 μ l tripszin oldatot alkalmaztak. A titráló lemezt 37 °C-on tartva adták meg a hőkezelést, majd az extinkciót mérték ELISA fotométerrel 410 nm-en. A mikromódszer igen jól reprodukálható eredményeket szolgáltatott.

Frias és munkatársai (1994) szintén a tripszininhibitor aktivitását mérték Kakade módszerrel. Megállapították, hogy a csírázás alatt 44,6 %-al csökkent a tripszininhibitor aktivitása hüvelyes magokban.

Murphy és Resurreccion (1984) egy automatikusan működő készüléket szerkesztettek Kakade elvén, amely sorozatvizsgálatra is alkalmas. A készülék a BAPA-t használja a gátlás mértékének a megállapítására.

Blahovec (1991) tripszin- és kimotripszininhibitor-aktivitásának mérésére karbamiddal denaturált, izotópot tartalmazó albumint alkalmazott. Az albumint egy lemezen helyezte el. A natív radioaktív albuminmhoz hasonlította a szubsztrátját és a denaturált radioaktív albumint 20-szor érzékenyebbnek találta. Méréseiben tripszin- és kimotripszin-aktivitásának meghatározását végezte el növényi magokban.

Gatta és munkatársai (1989) a tripszininhibitor-aktivitását mérték szintetikus szubsztrát benzoil-DL-arginin-*p*-nitroanilid jelenlétében hüvelyes magokban. Munkájukban rámutatnak arra, hogy pH = 11,00 glicin puffer, amely karbamidot és EDTA-t is tartalmaz eredményesebben alkalmazható, mint az eredetileg alkalmazott nátrium-hidroxid.

Lewosz és munkatársai (1981) elektroforetikus módszert alkalmaztak a burgonyából származó tripszininhibitor molekuláris formájának meghatározására.

A hüvelyes alapanyagokból előállított száraztészta termékek antinutritív anyagtartalmának vizsgálatára alkalmaztuk a tripszininhibitor aktivitásának fotometriás mérését.

2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

Anyagok

A kísérletek során sárga- és zöldborsó lisztekből 0,6 %-os Amidan 250 B (Grindsted, Dánia) felhasználásával előállított száraztésztaakat használtuk fel (Kovács, 1994).

Vizsgálati módszerek

Tripszininhibitor-aktivitás mérése (MSZ 21/75-1988)

A sárga- és zöldborsó lisztek, valamint a szárított és főzött tészták tripszininhibitor aktivitásának mérésére a Petres és Kárpáti (1981) mérésein alapuló szabványos eljárást alkalmaztuk.

A módszer elve, hogy a tripszin enzim az N- α -benzoiil-DL-arginin-p-nitroanilidhidroklorid (DL-BAPA) mesterséges szubsztrátból sárga színű p-nitroanilint hasít le. Tripszininhibitor jelenlétében sárga színű vegyület keletkezik, így az enzimgátlás fotometriásan követhető.

A felhasznált enzim –EC.3.4.2.1.4 –4E/mg Reanal RT) illetve DL-BAPA (Reanal RT) voltak.

A szabványnak megfelelően a zsírtartalom eltávolítása n-hexánnal történt.

A vizsgálati minták TIU értékét 1 mg zsíros, légszáraz anyagra vonatkoztatva adjuk meg:

$$TIU(mg) = \frac{100 - zs}{100} \cdot (TIU / mg)^*, \quad \text{ahol}$$

zs = zsírtartalom, s%

$TIU/mg^* = a$ tripszininhibitor-aktivitás 1 mg zsírtalan anyagra vonatkoztatva.

3. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK

Az alapanyagok jellemzőit az 1. táblázat tartalmazza, míg a tripszininhibitor aktivitás mérés eredményeit a 2. táblázat mutatja be. Az eredmények értékelése IBM kompatibilis számítógép Statgraphics 2.6 verziójával történt 95 % szignifikancia szinten

A natur és emulgeátoros tészták zsírtartalma eltérő, mert a szénhidrát-lipid komplexből az emulgeátor nem extrahálható. Így nagyobb a zsírtartalom a hozzáadott emulgeátor mennyiségével.

1. táblázat: Sárga- és zöldborsó lisztek és a belőlük előállított tészták jellemzői

Minta	Szárazanyag, %	Fehérje, %	Zsír, %
Zöldborsó (UM-1073)	89,52	24,06	2,80
Zöldborsó tészta (A250)	90,52	24,06	3,35
Sárgaborsó (Junak) liszt	88,52	23,66	4,00
Sárgaborsó tészta (A250)	90,12	23,66	4,68

2. táblázat: Sárga- és zöldborsó alapú tésták tripszininhibitor-aktivitás mérésének eredményei

Minta	Zsír, %	Tripszininhibitor aktivitás, TIU/mg			
		liszt	szárított téstia főzés	15 perc főzés	30 perc
Zöldborsó, liszt átlagérték+szórás	2,80	5,70 6,86 6,11 6,22±0,62	--	--	--
Zöldborsó+0,6 % A250* átlagérték+szórás	3,35 (szárított) 0,52 (15 perc) 0,20 (30 perc)		3,05 3,67 2,53 3,08±0,52	1,92 2,27 1,51 1,90±0,32	1,61 1,51 2,28 1,80±0,41
Sárga borsó, liszt átlagérték+szórás	4,00	4,84 5,04 4,30 4,72±0,48	--	--	--
Sárga borsó + 0,6 % A250 átlagérték+szórás	4,68 (szárított) 0,50 (15 perc) 0,10 (30 perc)		2,49 2,41 3,00 2,63±0,51	2,17 2,28 2,48 2,31±0,29	1,65 1,71 1,89 1,75±0,19

* Amidán 250 B

4. EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

A hüvelyes alapú sárga- és zöldborsó lisztek, a belőlük készült szárított és főzött készítmények mérési eredményei alapján az alábbi megállapítások tehetők:

- A DL-BAPA szubsztrát alkalmazásával az enzimatis reakció csak a feltételek igen szigorú betartása mellett szolgáltat reprodukálható eredményeket.
- Az alkalmazott módszer szórása függ a minta TIU/mg értékétől, a nyers liszteknél nagyobb a mérések szórása, mint a főzés után kapott termékek kisebb értékeinél, így $6,22 \pm 0,62$ illetve $1,75 \pm 0,19$.
- A nyers zöldborsó illetve sárgaborsó liszt adatait nézzük, ez semmilyen hőkezelést nem kapott, de a TIU/mg érték nyers állapotban is kisebb, mint 10 TIU/mg. Így, ez fogyasztásra minden korlátozás nélkül alkalmazható.
- Mind a sárga-, mind a zöldborsó alapú készítményeknél a készítménykészítés során fellépő, mind az azt követő 39 °C-os, 24 órás szárítás egy szignifikáns 40-50 %-os csökkenést jelent. A 15 perces normál főzési idő csak a zöldborsó alapú készítményénél jelentkezik szignifikáns csökkenésként, a sárgaborsó bázisánál már nem lényeges a csökkenés. A túlfőzés, amelyet a 30 perces főzési idő reprezentál, szintén előnyös a TIU/mg csökkenése szempontjából.

IRODALOM

An, J., Warigatunga, S., Bacon, J. R and Fenwick, G.R. (1994): Microanalytical Method for Trypsin Inhibitors in Peas. Proceedings of the international EURO FOOD TOX IV. Conference, Bioactive substances in Food of Plant Origin, Volume 1. Fecs event 193, 263-264

Blahovec, J. (1991): Use of Denaturated Radioalbumin for Determination of Trypsin and Chymotrypsin in Different Plant Seeds. J. Agric. Food. Chem 39, 276-279

Frias, J., Diaz, C. and Vidal-Valverde, C. (1994): Kinetics of α -Galactosides and Trypsin Inhibitor Activity During Germination of Lentils. Proceedings of the international EURO FOOD TOX IV. Conference, Bioactive substances in Food of Plant Origin, Volume 1. Fecs event 193, 256-262

Gatta, G., Piergiovanni, A. R. and Perrino, P. (1988): An improved method for the determination of trypsin inhibitor levels in legumes. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie, 21, 6, 315-318

Kakade, M.L., Rackis, J., Mc Chee, J.E. and Puski, G. (1974): Determination of the trypsin inhibitor activity of soy products. *Cereal Chem.* 51, 376-382

Kovács E. (1994): Szénhidrát frakciók hatása a borsó alapú száraztészták minőségére. *Tudományos Közlemények KÉE ÉFK* 17. 100-

Lewosz, J., Rys, D. and Reda, S. (1981): Electrophoretic method for the determination of molecular form of trypsin inhibitors of potato tubers. *Analytical Biochemistry*, 115, 1, 27-29

MSZ 21175-1988

Petres J. és T. Kárpáti Gy. (1981): Szójatermékek tripszininhibitor-aktivitásának meghatározása. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 3, 179-186

Van Zuilichen, D.J., Cruz, E.U. and Stoip. W. (1994): Single screw extrusion of a pasta of yellow pea. *Proceeding of 9th World Congress of Food Science and Technology*, Juli 30 - August 4, 1995 Budapest, Hungary. *Astrats Vol. I.* 8

EXAMINATION OF ANTINUTRITIVE COMPOUNDS OF MACARONI DOUGH ON LEGUMINOUS BASIS

E. KOVÁCS

University of Horticulture and Food Industry
College of Food Industry
H-6701 Szeged, P.O. Box 433

ABSTRACT

The antinutritive compounds of macaroni doughs on leguminous basis produced with emulsifiers were examined. It was stated, by enzymatic methods that pea flours of 6,62 and 4,72 TIU/mg values were suitable without heat treatment for human consumption. The TIU/mg values of the samples were decreased significantly and advantageously by heat treatment. Macaroni doughs on leguminous basis are dietetic products for celiac patients, and the content of their antinutritive compounds does not exceed the permissible value.